Aus dem Röntgeninstitut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. Ad. Liechti

Ueber den Einfluß von Röntgenstrahlen auf das Wachstum der Pferdebohne

(Vicia faba equina)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinæ
der Universität Bern

vorgelegt von

Anton Salzmann
aus Naters, Wallis

Buchdruckerei Oberwallis — Naters-Brig 1942

Aus dem Röntgeninstitut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. Ad. Liechti

Ueber den Einfluß von Röntgenstrahlen auf das Wachstum der Pferdebohne

(Vicia faba equina)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinæ
der Universität Bern

vorgelegt von

Anton Salzmann
aus Naters, Wallis

Buchdruckerei Oberwallis — Naters-Brig 1942

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. Ad. Liechti von der medizinischen Fakultät Bern zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 4. März 1942.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:

Prof. Dr. A. v. Muralt.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Einleitung

Seit uns Konrad Röntgen seine Strahlen als mächtige Waffe im Kampfe gegen die Krankheit geschenkt hat, sucht die Forschung unablässig neue Wege und Möglichkeiten, diese Waffe zu schärfen und ihre Anwendung noch erfolgreicher zu gestalten. Vorbedingung dazu ist eine genaue Kenntnis der Strahlen und ihrer Wirkung auf biologische Objekte. Durch die schon viele Jahre zurückliegenden Versuche von Glocker, Jüngling und vieler anderer Forscher wurde die vorzügliche Eignung gewisser Bohnenarten für solche Untersuchungen erwiesen. Diese Bohnen reagieren nämlich schon auf geringe Strahlenmengen, und die Art der Reaktion, wie Wurzellänge, Nekrosen, Auftreten von Seitenwurzeln, ist der exakten Messung leicht zugänglich. Bis heute wurde hauptsächlich die schädigende Wirkung der Strahlen festgestellt. Für uns aber handelt es sich darum, zu untersuchen, ob Röntgenstrahlen auch eine wachstumfördernde Wirkung zeigen. Als Versuchsobjekt verwendeten wir die Pferdebohne (Vicia faba equina). Zu Vergleichszwecken nahmen wir ebenfalls einige Versuche mit schädigenden Dosen vor.

Methode

Die Reaktion der Bohnen auf die Bestrahlung hängt nicht nur von den Strahlen ab, sondern auch von den biologischen Faktoren in der Bohne selbst. Da es unser Ziel ist, den Einfluss der Röntgenstrahlen auf die Wachstumsgeschwindigkeit festzustellen, müssen wir die übrigen Faktoren ausschalten. Das geschieht dadurch, dass wir bei allen

Objekten dieselben Wachstumsbedingungen wählen. Daraus leitet sich der oberste Grundsatz für alle Versuche ab, nämlich: es ist jede Bohne genau gleich zu behandeln. Das gilt sowohl für die einzelnen Bohnen einer Serie als auch für die verschiedenen Serien unter sich. Das genügt aber noch nicht. Die Bohnen müssen nicht nur gleich behandelt werden, sondern schon von Anfang an einander möglichst ähnlich sein. Dies erfordert eine sorgfältige Auslese. Alle Samen, die abnorm gross oder klein waren, wurden ausgeschaltet. Ausserdem zeigte es sich, dass ziemlich viele der trockenen Samen einen Schmarotzer in Gestalt eines kleinen Käfers beherbergten. Er verrät sich durch einen runden, verfärbten Fleck der Samenoberfläche von etwa 2 mm Durchmesser; diese Stelle gibt schon leichtem Drucke nach, weil sich der Käfer unter der dünnen Samenschale ein Loch ausgehöhlt hat. Selbstverständlich führten auch alle übrigen Beschädigungen zum Ausschluss. Zum Quellen wurden 70—80 % der Samen verwendet. Wir legten jeweils 110 Stück in ein Gefäss mit Leitungswasser und liessen sie 24 Stunden darin liegen. Dann kamen die gequollenen Samen auf eine 4 cm dicke Schicht feuchtes Sägemehl; darüber 4 Lagen feuchtes Fliesspapier. So verblieben die Bohnen 3 × 24 Stunden, wobei das Fliesspapier jeden Tag angefeuchtet wurde. Für alle Versuche wurde steriles Sägemehl verwendet. Während dieser 4 Tage wurden die Bohnen im Dunkeln gehalten. Die Raumtemperatur betrug mit geringen Schwankungen 22° C. Die eben geschilderte und auch die weitere Behandlung der Bohnen folgt der von Glocker und Jüngling ausgearbeiteten Methode, abgesehen von einigen uns zweckmässig erscheinenden Aenderungen.

Vier Tage nach Beginn des Quellens wurden die Bohnen zur Bestrahlung ausgelesen. Unterdessen waren aus den Samen Wurzeln herausgewachsen, deren Länge zwischen 1—3 cm schwankte. Von den 110 zum Keimen verwendeten Bohnen wurden 48 für den eigentlichen Versuch ausgewählt. Entscheidend für die Auswahl war die Wurzellänge. In der gleichen Serie von 48 Stück war die grösste Wurzel höch-

stens 60—80 % länger als die kleinste. Es wurden jeweils vier Gruppen zu je 12 Bohnen gebildet. Davon diente eine Gruppe als Kontrolle; die andern drei wurden verschiedenen Strahlenmengen ausgesetzt. Um die Streuung, die bei jedem biologischen Versuch vorhanden ist, in vernünftigen Grenzen zu halten, bestrahlten wir 10 Serien. Es entsprechen also die unten folgenden Kurvenwerte für die Kontrollbohnen und die mit 12,5 r, 25 r und 50 r bestrahlten Bohnen der Summe von je 120 Einzelwerten.

Wir bestrahlten die ganze Bohne. Die Bestrahlungsbedingungen wurden so gewählt, dass die Absorptions- und Streuverhältnisse möglichst der Absolutmessung angepasst waren. Das geschah auf folgende Weise. Als Unterlage diente ein in einen Stickrahmen gespanntes Cellophanpapier. Darauf lagen die Bohnen, im Kreise geordnet, auf feuchtem Sägemehl und waren zum Schutz gegen Austrocknung mit feuchtem Fliesspapier bedeckt. Die Bestrahlung fand für alle Bohnen zwischen 15 und 16 Uhr statt. Es wurde ein Tiefentherapieapparat benutzt. Dieser liefert in 2 Min. 36 Sek. 50 r bei Feldgrösse von 15/20 cm, Fokus-Bohnendistanz 54 cm. Strahlung 200 kV, 8 mA und 1,0 mm Cu Filter. Um verschieden grosse Dosen zu erhalten, wurde die Dauer der Bestrahlung geändert. Dieselben 12 Bohnen wurden stets ohne Unterbrechung bestrahlt.

Nach der Bestrahlung wurden die Bohnen in Akkumulatorengläser gelegt. Diese Gläser haben folgende Masse: 16 cm tief, 6 cm breit, 11 cm lang. In ein Glas kommen 6 Bohnen. Das Glas wird durch entsprechend gefaltetes Fliesspapier innen ausgekleidet. Etwa 1 cm unter dem obern Rande werden im Fliesspapier auf jeder Längsseite drei Schlitze angebracht; durch diese wird je ein Glasstäbchen von $3^1/_3$ mm Dicke gesteckt. Diese Stäbchen reichen bis auf den Boden des Glases und befinden sich zwischen Fliesspapier und Glaswand. Der Raum innerhalb des Fliesspapiers wird mit feuchtem Sägemehl ausgefüllt bis auf die Höhe der genannten Schlitze. Nun werden die Bohnen auf das Sägemehl gelegt, und zwar so, dass die Wurzel durch den Schlitz hin-

durch neben dem Glasstäbchen zwischen Fliesspapier und Glaswand senkrecht hinunterwächst. Auf die Bohnen kommt eine dünne Schicht feuchtes Sägemehl. Die Wurzellänge lässt sich durch das Glas hindurch gut feststellen.

Nach der Einpflanzung stellten wir die Bohnen ans Fenster, wo sie aber nicht unmittelbar der Sonne ausgesetzt waren. Durch Auswechseln der Gläser erhielten alle gleichviel Licht. Das Wachstum wurde 7 Tage lang beobachtet und täglich zwischen 16 und $16^1/_2$ Uhr gemessen. Vom dritten Tage ab wurde die oberste Schicht Sägemehl täglich angefeuchtet. Das Anfeuchten geschah immer mit Leitungswasser.

Ergebnisse

Zur Feststellung der Strahlenwirkung ziehen wir vor allem das Längenwachstum der Hauptwurzel heran. Da es ungefähr 1 cm täglich beträgt, kommen je nach Bestrahlung ganz beträchtliche Unterschiede heraus. Wir sehen uns Tabelle I an. Die Fehlerberechnung wurde nach der Gaussschen Formel gemacht:

$$\text{mittl. Fehler} = \pm \sqrt{\frac{\Sigma \Delta^2}{(n-1)\,n}}$$

wobei Δ der Unterschied der einzelnen Länge zur Durchschnittslänge ist. Die Zahl in Klammern hinter der Bezeichnung bedeutet die Anzahl Serien zu je 12 Stück. Die Bohnen, die mit 12,5 r bestrahlt wurden, zeigen eine deutliche Steigerung des Wachstums, und zwar vom ersten Tage an; also eine sehr kurze Latenzzeit. Diese Steigerung beginnt am fünften Tage abzunehmen, und am siebenten Tage ist das Wachstum der Kontrollbohnen stärker. Bei 25 r sehen wir im Prinzip das Gleiche. Allerdings ist die Wachstumssteigerung im Ganzen bedeutend geringer und nimmt schon nach einem Tage ab. Auch das Ueberholen durch die Kon-

trollpflanzen geschieht hier früher. Bei 50 r sind die Unterschiede im Wachstum so gering, dass man praktisch nicht von einer Steigerung sprechen kann. Bei Betrachtung der Tabelle I fällt noch eine interessante Tatsache auf: die meisten Pflanzen erreichen am 3. Tage den grössten Tagesdurchschnitt. Eine Feststellung, der wir allerdings keine grosse Bedeutung beimessen wollen.

Da uns aber nicht nur die Reaktion des Wurzelwachstums auf so kleine r-Mengen interessiert, erhöhen wir die r-Zahl durch längere Bestrahlungsdauer. Das Ergebnis zeigt Tabelle II. Die Schädigung des Wachstums, die sich schon bei 50 r leicht bemerkbar macht, wird immer stärker: je grösser die Strahlenmenge, desto kleiner die tägliche Längenzunahme. Die Schädigung setzt schon am ersten Tage ein und nimmt dann immer mehr zu.

In der graphischen Darstellung I sehen wir einige Wachstumskurven. Um die Uebersichtlichkeit zu wahren, wurden nur vier Kurven eingezeichnet. Die Kurve der Kontrollpflanzen entspricht 17 Serien. Die Wachstumsgeschwindigkeit steigt hier bis zum 3. Tage an. Darauf folgt ein ziemlich regelmässiger Abfall. Dieser könnte in Zusammenhang stehen mit dem Auftreten der Seitenwurzeln zwischen dem 4. und 5. Tag. Auch bei den bestrahlten Serien setzt der Abfall nach dem 3. Tage stärker ein.

Die graphische Darstellung II zeigt uns das Verhältnis der Tageslänge der bestrahlten Bohnen zur Tageslänge der jeweiligen Kontrollen. So ergibt sich z. B. für den 1. Tag:

$$\frac{12{,}5\ r}{K} = \frac{13{,}24}{12{,}17} = 1{,}087$$

Schon beim ersten Blick fällt die beträchtliche Wachstumssteigerung der mit 12,5 r bestrahlten Bohnen auf. Diese Steigerung erreicht langsam zunehmend am 5. Tage ihren Höhepunkt. Bei 25 r sehen wir das Maximum schon am ersten Tage. Die Werte für 50 r und die entsprechenden Kontrollpflanzen sind aus allen Serien zusammengezogen.

Wir stehen hier vor der interessanten Tatsache, dass Reizung und Schädigung sich bis zum 5. Tage die Waage halten. Bei den höhern Strahlenmengen von 100 r bis 250 r zeigt sich eine erhebliche Schädigung. Der Grad dieses langsamern Wachstums entspricht den verwendeten Strahlenmengen.

Aus dem Verlauf der Wachstumskurven in Darstellung II ist ferner das bemerkenswerte Resultat zu ziehen, dass auch die Keimlinge, deren Wachstum während 5 bis 6 Tagen beschleunigt wurde, später ein geringeres Wachstum zeigen als die Kontrollen. Im Gegensatz dazu zeigen alle Kurven mit anfänglich stärkerer Hemmung später wieder eine deutliche Verflachung oder sogar einen Anstieg des Wachstums. Demnach hönnte das Wachstum der bestrahlten Bohnen unter dreierlei Einfluss stehen: Förderung, Hemmung und biologische Regeneration. So verwandelt sich bei kleinen Strahlenmengen (12,5 r und 25 r) die anfängliche Stimulierung in eine Spätschädigung, während sich die Frühschädigung (100 r, 150 r, 200 r und 250 r) langsam zu regenerieren strebt. Bei 150 r und 200 r steigt das Wachstum tatsächlich am letzten Tage wieder an. Bei 100 r bleibt das Wachstum vom 2. bis 6. Tage ziemlich konstant, und auch bei 250 r finden wir am letzten Tage eine sichtliche Verlangsamung des Abfalls.

Weiterhin zeigt das Auftreten der Seitenwurzeln eine Abhängigkeit von der Röntgenbestrahlung. Wir können aus Tabelle III und IV keine Förderung durch geringe Strahlenmengen feststellen. Die mit 12,5 r bestrahlten Bohnen verhalten sich gleich wie die Kontrolle. Bei 25 r treten die Seitenwurzeln bereits etwas verspätet auf. Bei 50 r ist eine deutliche Verspätung festzustellen. Diese nimmt mit steigenden r-Zahlen immer mehr zu, und bei 250 r bleiben die Seitenwurzeln völlig aus.

Ueber die Nekrosen der Wurzelspitze belehren uns die Tabellen V und VI. Daraus lässt sich keinerlei Beziehung zwischen Bestrahlung und Anzahl sowie zeitlichem Auftreten der Nekrosen feststellen. Es wurden allerdings nur die Nekrosen bis Ende des 7. Tages berücksichtigt.

Zusammenfassung

Die Ergebnisse unserer Untersuchung lassen sich wie folgt zusammenfassen.

Es hat sich einwandfrei gezeigt, dass Strahlenmengen von 12,5 r und 25 r das Wachstum der Hauptwurzel der Vicia faba equina fördern. Diese Förderung beginnt schon am ersten Tage, dauert 5 bis 7 Tage und geht dann in ein verlangsamtes Wachstum über. Bei 50 r tritt bis zum 5. Tage keine Aenderung des Wachstums ein, später Hemmung. Von 100 r an wirken die Röntgenstrahlen in immer grösserm Masse wachstumshemmend, wobei diese Hemmung auch schon am ersten Tage einsetzt.

Die Zahl und das zeitliche Auftreten der Seitenwurzeln wird durch keine der verwendeten Strahlenmengen begünstigt und bereits von 25 r an in steigendem Mass geschädigt.

Das Auftreten von Nekrosen der Wurzelspitze lässt sich nicht mit der Bestrahlung in Beziehung bringen; es scheint demnach auf einer andern Ursache zu beruhen.

Tabelle I.

Tägliches Längenwachstum der Hauptwurzel in mm

Tage nach Bestrahlung	Kontrolle (10)	12,5 r (10)	25 r (10)	50 r (9)
1	12,17 ± 0,13	13,24 ± 0,11	13,88 ± 0,14	12,25 ± 0,11
2	12,09 ± 0,14	12,85 ± 0,10	12,65 ± 0,25	12,15 ± 0,26
3	12,82 ± 0,20	14,18 ± 0,21	13,39 ± 0,23	13,15 ± 0,18
4	11,78 ± 0,26	13,61 ± 0,23	12,04 ± 0,26	11,47 ± 0,22
5	10,60 ± 0,12	11,65 ± 0,14	10,75 ± 0,25	10,81 ± 0,19
6	9,59 ± 0,07	9,74 ± 0,17	9,35 ± 0,18	8,73 ± 0,15
7	9,54 ± 0,19	9,06 ± 0,24	8,33 ± 0,28	7,37 ± 0,17

Tabelle II.

Tägliches Längenwachstum der Hauptwurzel in mm

Tage nach Bestrahlung	Kontrolle (7)	50 r (3)	100 r (7)	150 r (3)	200 r (3)	250 r (4)
1	12,31 ± 0,27	12,24 ± 0,71	11,57 ± 0,22	11,78 ± 0,33	10,91 ± 0,48	10,73 ± 0,41
2	12,53 ± 0,26	11,67 ± 0,13	11,09 ± 0,22	9,52 ± 0,37	10,08 ± 0	9,21 ± 0,29
3	12,29 ± 0,26	10,34 ± 0,32	10,90 ± 0,29	9,68 ± 0,73	9,38 ± 0,35	9,27 ± 0,23
4	11,11 ± 0,26	10,20 ± 0,24	9,29 ± 0,16	7,83 ± 0,50	7,02 ± 0,45	7,12 ± 0,25
5	10,71 ± 0,33	11,14 ± 0,36	9,74 ± 0,15	8,18 ± 0,40	6,44 ± 0,61	6,02 ± 0,12
6	10,67 ± 0,34	11,53 ± 0,75	9,79 ± 0,26	7,65 ± 0,47	6,34 ± 0,23	5,21 ± 0,11
7	10,21 ± 0,40	10,64 ± 0,90	8,72 ± 0,29	8,41 ± 0,58	6,51 ± 0,20	4,77 ± 0,14

Tabelle III.

Anzahl der Bohnen mit Seitenwurzeln in % der Gesamtzahl

Tage nach Bestrahlung	Kontrolle	12,5 r	25 r	50 r
5	14,16	12,16	10,83	2,78
6	61,66	61,66	60,83	49,07
7	20,—	20,83	23,33	34,26

Tabelle IV.

Anzahl der Bohnen mit Seitenwurzeln in % der Gesamtzahl

Tage nach Bestrahlung	Kontrolle	50 r	100 r	150 r	200 r	250 r
5	11,90	16,67	2,38	0	0	0
6	63,09	44,45	50,—	22,22	5,56	0
7	23,81	33,33	42,86	33,33	11,11	0

Tabelle V.

Anzahl der Bohnen mit Nekrose der Wurzelspitze in % der Gesamtzahl

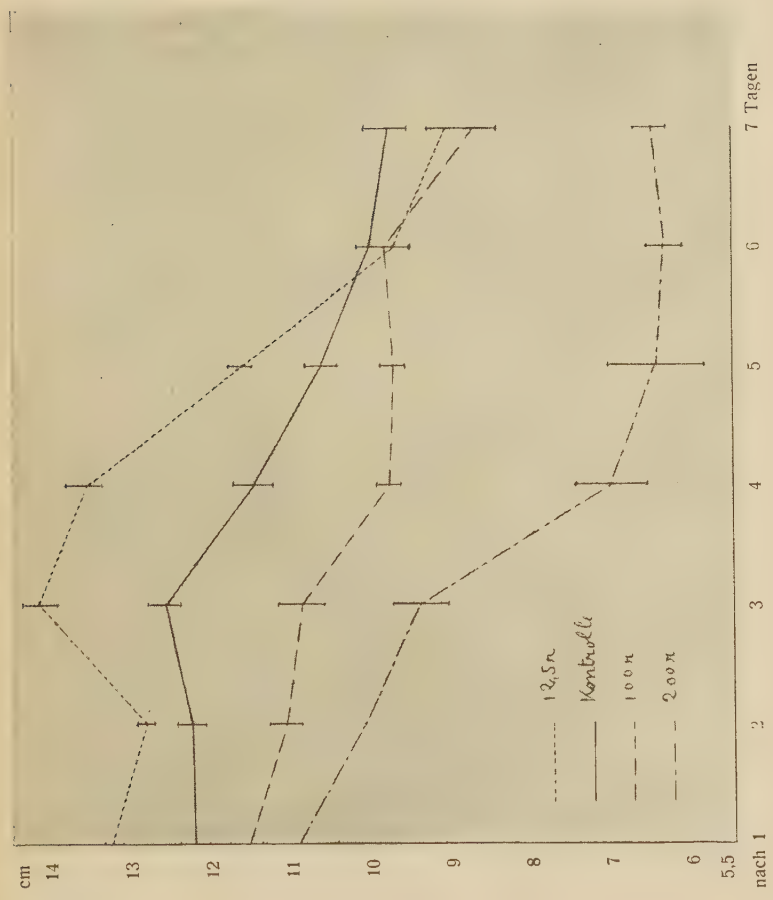
Tage nach Bestrahlung	Kontrolle	12,5 r	25 r	50 r
5	2,50	0,83	0	0,93
6	3,33	5,—	7,50	7,41
7	12,50	16,60	17,50	14,81

Tabelle VI.

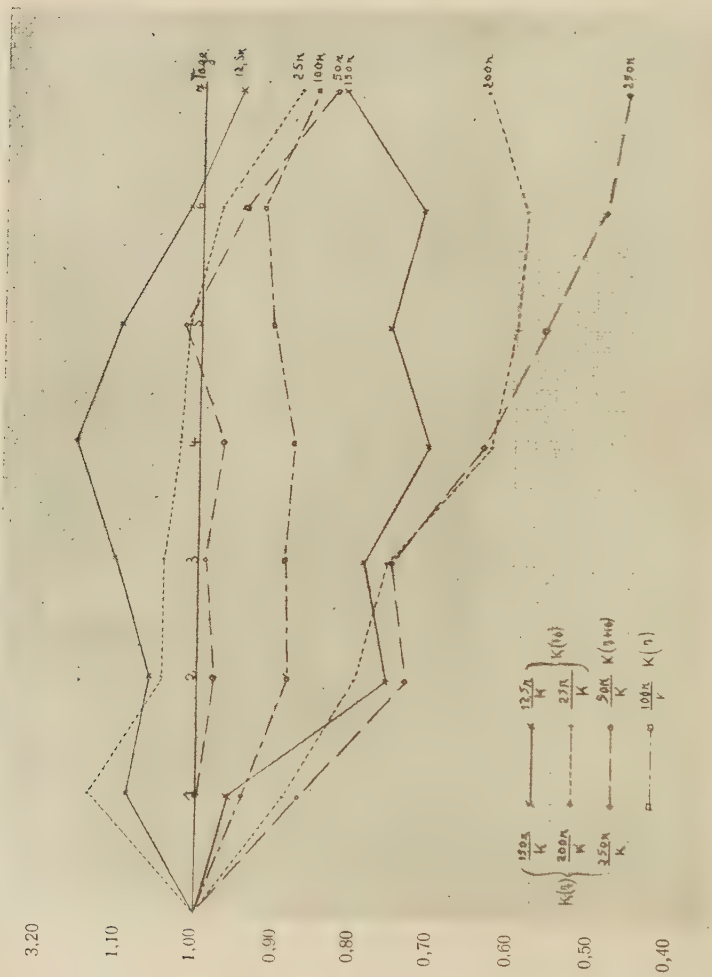
Anzahl der Bohnen mit Nekrose der Wurzelspitze in % der Gesamtzahl

Tage nach Bestrahlung	Kontrolle	50 r	100 r	150 r	200 r	250 r
5	0	0	0	0	5,56	0
6	7,14	5,56	11,90	8,33	8,33	0
7	16,67	11,11	14,29	8,33	13,88	12,50

Graphische Darstellung 1



Graphische Darstellung II



Literatur

Glocker R. und Reuss A.: Über die Wirkung von Röntgenstrahlen verschiedener Wellenlänge auf biologische Objekte; Strahlentherapie, 46, 137 (1933).

Glocker R., Hayer F., Jüngling O.: Über die biologische Wirkung verschiedener Röntgenstrahlenqualitäten bei Dosierung in R-Einheiten; Strahlentherapie, 32, 1 (1929).

Heeren I.: Veränderungen der Grössenzunahme von Wurzeln unmittelbar während der Röntgenbestrahlung; Strahlentherapie, 43, 160 (1932).

Iven Hubert: Neuere Untersuchungen über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf Pflanzen; Strahlentherapie, 19, 413 (1925).

Zacharias Peter: Über den Einfluß der rhythmischen Unterbrechung der Röntgenstrahlung auf das biologische Objekt; Strahlentherapie, 59, 224 (1937).